UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

SERIE TECNICA Y DIDACTICA, Nº 9

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO
BIBLIOTECA

CONCEPTOS Y METODOS EN PALEOBOTÁNICA

POR

SERGIO ARCHANGELSKY

23 AG

LA PLATA

REPUBLICA ARGENTINA

1962

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
SERIE TECNICA Y DIDACTICA. Nº 9

CONCEPTOS Y METODOS EN PALEOBOTANICA

Por SERGIO ARCHANGELSKY

ABSTRACT

The author gives definitions of different types of plant fossilization. Impressions, moulds, petrifactions, compressions and mummifactions are discussed. In the second part, all the important techniques for studying different types of fossil plants are described and discussed. Many suggestions concerning the preparation, preservation and labelling of fossil plants are given.

This paper aims to fill a gap in the palaeobotanical literature published in Spanish; it also may be useful for geologists working in stratigraphy using the plants for their purposes.

INTRODUCCION

El estudio de los vegetales fósiles constituye un tema que ha sido abordado por los investigadores desde hace unos 150 años. Las primitivas descripciones de los fósiles eran meramente superficiales, o sea que trataban sólo con lo que hoy conocemos como morfología externa. En 1831, Henry Witham publica el primer trabajo sobre leños fósiles, utilizando para ello el método de las secciones delgadas introducido por W. Nicol. Este fue el primer paso en el estudio de la morfología interna (histología) de los vegetales fósiles. Durante casi cien años, los cortes delgados constituyeron la única técnica para revelar la estructura de las plantas fósiles. Recién en nuestro siglo se habían perfeccionado nuevos métodos que han permitido revelar la histología de los vegetales fósiles que preservan restos de la materia orgánica original. Al mismo tiempo, se precisaron más los diversos tipos y procesos de fosilización. En la actualidad el estudio de las plantas fósiles se encara en forma mucho más completa, y los datos así obtenidos permiten, por una parte, precisar la posición sistemá-

tica de los fósiles y, por otra, servir de guía más segura en la estratigrafía. Con la metodología y los conceptos modernos, la paleobotánica ha rejuvenecido y sus alcances pueden ser apreciados por la cantidad y calidad de trabajos de investigación original que aumentan rápidamente.

No todos los grupos vegetales que viven en la actualidad han estado representados en el pasado. Hay grupos que se hallan extinguidos; algunos tuvieron muy breve duración en el tiempo geológico. Por otra parte, plantas que aún existen en las floras actuales, han sido dominantes en el pasado: el ejemplo clásico es *Ginkgo biloba*, una sola especie viviente de un orden que ha tenido numerosos representantes durante los períodos Jurásico, Cretácico y Terciario. Ciertos grupos de plantas son relativamente modernos, como las Angiospermas, que hoy dominan en la vegetación mundial. Los primeros restos de ellas se hallan en el Cretácco inferior, pero en esa época no eran todavía dominantes. Las Marattiáceas, familia de helechos vivientes, dominaron en las asociaciones florísticas del Carbónico y Pérmico inferior. Otros órdenes, como las Cordaitales, son gimnospermas que sólo se conocen en la era paleozoica, mientras que las Psilofitales (primitivas Pteridófitas) están presente exclusivamente en estratos del período Devónico.

Un cuadro de clasificación de los vegetales incluiría, por lo tanto, todos los grupos vivientes y fósiles, ya que éstos, en muchos casos, son importantes para llegar a la comprensión del origen y de las líneas evolutivas que condujeron a los grupos que hoy dominan el paisaje terrestre. En líneas generales, los grandes grupos de plantas superiores han tenido épocas de dominancia y declinación (cuadro A). Las plantas inferiores (criptógamas celulares) se conocen a partir del Cámbrico, mientras que vegetales de organización superior (criptógamas vasculares) no aparecen hasta el Silúrico superior. Poco se conoce de las primeras, que aparentemente han existido en todos los períodos geológicos del eón Fanerozoico. Las plantas superiores, en cambio, han tenido un desarrollo que puede seguirse mucho más de cerca, por la mayor abundancia de material, ya que la estructura de los esporofitos es más resistente a la acción de los agentes de destrucción durante los procesos de fosilización.

El presente trabajo tiene por objeto explicar los tipos de fosilización de las plantas y los métodos que actualmente se utilizan en la obtención y preparación de estos fósiles.

CUADRO A

(Adaptado de Zeuner, 1956)

Eras	Períodos	Duración en millones de años	Flora
Cenozoico	Cuartario	1	Dominancia de ANGIOSPERMAS
	Terciario	57 a 67	
Mesozoico	Cretácico	69 a 72	Dominancia de GIMNOSPERMAS y PTERIDOFITAS
	Jurásico	25 a 27	
	Triásico	29 a 30	
Paleozoico	Pérmico	21 a 24	Dominancia de PTERIDOFITAS, GIMNOSPERMAS presentes
	Carbónico	52 a 55	
	Devónico	43 a 58	Primitivas plantas TERRESTRES
	Silúrico	32 a 37	
	Ordovícico	80	ALGAS
	Cámbrico	80	
Precámbrico		Más de 1500	Vestigios de ALGAS

Tipos de Fosilización

Los fragmentos de plantas, incluídos en arenas o en limos, pueden llegar a fosilizarse durante el proceso de consolidación de estos sedimentos. Este proceso ocurre generalmente en lagos o lagunas, pantanos, estuarios o en regiones donde la superficie terrestre es invadida lentamente por las aguas. Ocasionalmente, cenizas volcánicas pueden sepultar vastas áreas con vegetación. Si la acción destructiva (mecánica) no es grande, las plantas también pueden fosilizarse en estas condiciones.

El tamaño de los fragmentos vegetales que se fosilizan, está en proporción directa con las distancias de su origen al yacimiento fosilífero y con el movimiento de las aguas que los han transportado. Si el transporte es largo, serán cada vez más diminutos; cuando el transporte es nulo (sepultadas *in situ*), la planta puede quedar totalmente preservada. La capacidad mecánica de las estructuras vegetales es

muy variable. Las partes muy compactas y resistentes, como los troncos y las ramas, resisten más a los agentes mecánicos de destrucción. Pero las estructuras florales, generalmente muy frágiles, se destruyen con facilidad. Estas estructuras son muy raras de encontrar también por otras causas, como la de su aparición durante cortos períodos anuales. Por lo tanto, la parte persistente de los aparatos vegetativos constituye siempre un objeto más apto para la fosilización.

La fosilización depende también de la combinación de otros procesos como la fermentación (aeróbica y anaeróbica), la oxidación y la descomposición por la luz, que conducen a la putrefacción, humificación, etc. Los factores agua (humedad) y oxígeno (presencia o ausencia) son primordiales en estos procesos que, en mayor o menor grado, transforman o destruyen la materia orgánica primitiva de un vegetal. Esta materia primitiva puede conservarse total o parcialmente y, al mismo tiempo, puede preservar su estructura original en mayor o menor grado (compresiones y momificaciones). A estos organismos así fosilizados, Krishtofovich (1957) los denominó *fitoleimas* (del griego φγτον: planta y λειμμα: resto). Restos vegetales que han cambiado muy poco su composición original (como fragmentos de leño, semillas, piñas de coníferas, etc., hallados en turberas) se denominan subfósiles o semifósiles. Las partes de la planta que han cambiado en parte su composición original, se las denomina *xilofitoleimas*, y las más carbonizadas, *antracofitoleimas*. Todas las fitoleimas que se concentran en grandes masas en forma casi pura, dan origen a las *caustobiolitas* o combustibles fósiles como la turba, el lignito y algunos otros carbones.

Las plantas fósiles pueden clasificarse de la siguiente manera:

1) *Petrificaciones.* — También llamadas plantas mineralizadas. Los tejidos inmersos en un medio líquido rico en soluciones minerales, son reemplazados molecularmente en el tejido y masivamente en las cavidades del organismo, por materias inorgánicas, sin cambiar su forma ni perder la estructura original. Para que la fosilización se produzca, se requiere un medio aséptico, con mínima oxidación, y también se requiere una mínima acción mecánica del medio (movimiento o turbulencia). Según la solución mineral dominante, las petrificaciones serán en general silíceas o calcáreas.

El proceso de fosilización es como sigue. Los lúmenes (o sea las partes de la planta que están vacías u ocupadas por agua, que desaparece cuando aquélla muere) son rellenados por la solución silícea o calcárea, mientras que las partes resistentes que forman el esqueleto estructural, absorben parcialmente la solución mineral, pero conservan algunos de los componentes originales (o sea que hay una sustitución parcial). Esto es evidente, pues al atacar con un ácido la superficie pulida de una petrificación, la resistencia a la corrosión no es uniforme. El mineral que rellena los lúmenes se disuelve más rápidamente, mientras que el mineral combinado o que reemplaza en parte la materia orgánica de las zonas resistentes, no se disuelve con la misma rapidez, y queda en relieve. Este hecho ha permitido el desarrollo de una técnica para el rescate de estructuras que quedan en relieve: la técnica del "peel". Aún no conocemos el comportamiento exacto de las moléculas orgánicas e inorgánicas que se combinan o sustituyen. Recientemente, el autor hindú J. Sen ha utilizado fotografías con rayos X para diferenciar unidades estructurales en ciertas petrificaciones. Para los interesados en este aspecto, señalo la bibliografía: Sen, 1955, 1956, 1957 a y b; Mitra y Sen, 1956.

Las petrificaciones constituyen un tipo de fósil perfecto, ya que podemos estudiar la estructura original en detalle, a veces con tanta perfección como en un vegetal actual. Las petrificaciones más comunes son las silíceas, y de ellas una vasta mayoría corresponden a troncos y tallos. Las estructuras reproductivas, o bien hojas y frondes, son menos frecuentes, pues están constituídas, en general, por tejidos más delicados y, por lo tanto, son menos resistentes a las condiciones de fosilización. Uno de los ejemplos más hermosos de petrificación por silicificación, lo constituyen los restos vegetales procedentes de nuestro jurásico medio patagónico (formación La Matilde) en el área de los Bosques Petrificados de la Provincia Santa Cruz. Se hallan por centenares megastróbilos de coníferas, y su estructura está perfectamente conservada. Troncos enormes de coníferas, algunos de más de dos metros de diámetro yacen formando un conjunto impresionante. Las condiciones de fosilización de esta área particular en el Jurásico medio han sido tan ideales, que se han preservado plantas delicadas como hongos basidiomicetes, y pueden aún observarse muchos de sus detalles estructurales.

La petrificación por calcificación es también común en troncos. Los ejemplos más hermosos son las famosas "bolas de carbón" (coalballs) del Carbónico europeo y norteamericano. Estas bolas son incrustaciones calcáreas que se hallan incluídas en estratos de carbón:

como su nombre lo indica son generalmente de forma esférica. La masa de estas bolas contiene numerosos restos fragmentarios de plantas que conservan la materia carbonácea original (los elementos H y O de los tejidos se pierden durante la fosilización, y el elemento C queda preservado). Se han hallado en estas bolas estructuras delicadas (frondes, fructificaciones, etc.), y su estudio ha revelado la existencia de una exhuberante flora de clima húmedo durante el período Carbónico, en el hemisferio Norte. Hasta el presente no hemos encontrado nada semejante en el hemisferio austral.

El estudio de las petrificaciones fue desarrollado ya en el siglo pasado. Pero en el presente siglo está siendo llevado a cabo con mejores resultados, debido a la aplicación de nuevas técnicas que permiten realizar secciones anatómicas sin mayor deterioro del material.

El paleobotánico que se halla coleccionando en el campo debe procurar conseguir petrificaciones preferentemente, pues éstos serán los restos que le proporcionarán información botánica de valor. Casi siempre conseguimos sólo restos fragmentarios de troncos (madera petrificada). Pero en todos los casos, debemos buscar que no sólo consistan de leño (xilema) sino que también tengan la médula y la corteza. Las bases de ramas o los pecíolos, orgánicamente unidos a los troncos, son también de mucho valor.

Compresiones. — Ciertos autores, al referirse a compresiones, incluyen en ellas las impresiones y los moldes, llamando incrustaciones a lo que nosotros denominaremos compresiones. Las impresiones (o improntas) y los moldes, son restos vegetales que han perdido todo resto de materia orgánica y serán tratados aparte.

Las condiciones de fosilización para que se produzca una compresión son, en general, las mismas que para una petrificación. La planta queda sumergida en un medio líquido en el cual la oxidación es mínima. Pero mientras que una petrificación mantiene la forma original, la forma externa de una compresión es modificada por la presión vertical de la columna sedimentaria que la cubre. (Ver Walton, 1936). Por lo tanto, las dimensiones verticales se reducen mientras que las horizontales no cambian. Luego de un tiempo, la sustancia orgánica de la planta, que consiste principalmente en celulosa y lignina, se convierte en carbón y los carbohidratos se transforman en hidrocarburos; las cutículas y las paredes de las esporas no cambian su composición (ver momificación). La materia orgánica se preserva como

una capa carbonizada (perdiendo H y O), la cual retiene a menudo algunas de las membranas cutinizadas y, a veces, también algo de la estructura original. Este tipo de fósil es común en sedimentos continentales. Las hojas y frondes, se adaptan magníficamente a este tipo de fosilización por su forma aplanada, depositándose paralelamente al plano de estratificación. En general su forma original no está muy alterada. Con cuerpos voluminosos (troncos p. ej.) es diferente, ya que sufren una deformación vertical notable y, por ello, suelen ser más difíciles de interpretar. Algunas estructuras fértiles pierden su forma original, pero conservan detalles estructurales que permiten a menudo su reconstrucción. Estas estructuras fértiles se preservan como manchones carbonosos informes, que comparadas con hojas o frondes adyacentes, parecen negar la posibilidad de una interpretación. Es por ello que el estudio de las partes fértiles a menudo no ha sido encarado, pues la atención del investigador siempre ha sido atraída por aquellas compresiones que mantenían la forma original de la planta. El desarrollo de técnicas de rescate ha permitido adelantar el conocimiento de las estructuras fértiles y este aspecto está siendo desarrollado en las últimas décadas. Es muy importante, pues, coleccionar cuidadosamente y no desechar restos carbonáceos informes que sugieran estructuras. Megascópicamente, las estructuras fértiles no son fáciles de observar, y sólo en el laboratorio, luego de su rescate, podremos aceptar o desechar un fósil dado. Las técnicas de rescate, diversificadas en la actualidad, han partido originalmente del método de la "transferencia" de John Walton.

La forma que adopta una compresión luego del proceso de fosilización, depende de la presión vertical del sedimento y del grado de descomposición del organismo. El proceso ha sido expuesto detalladamente por Walton (1936), y ejemplificado con diagramas que permiten reproducir la forma (y aún el volumen) original de la planta comprimida. Las ideas expuestas por este autor son importantes y permiten obtener caracteres diagnósticos que de otra forma quedarían ignorados.

En algunas compresiones, la estructura orgánica de la materia carbonosa no se preserva. Pero a menudo pueden estar presentes ciertas membranas (cutículas, p. ej.), que son mucho más resistentes a la oxidación y las presiones. Es por ello conveniente coleccionar todo resto vegetal carbonizado, pues en caso de que la estructura interna

esté desintegrada, podremos todavía conseguir información suplementaria (y a veces fundamental) con el estudio de las membranas.

Momificaciones. — Ciertos componentes orgánicos de una planta, son extremadamente resistentes a la oxidación y a la descomposición. La cutícula que cubre la epidermis, y la exina de los granos de polen y de las esporas son los ejemplos más comunes. Durante el proceso de fosilización, estas membranas no alteran aparentemente su composición original, y se preservan conservando intactas sus estructuras; por eso, estos fósiles son denominados momificaciones. Su frecuencia es mayor de lo que se pensaba, y su estudio, en más de una oportunidad, ha probado ser de gran valor.

Los granos de polen y las esporas suelen hallarse en distintos tipos de sedimentos, inclusive marinos, ya que estas estructuras son la única parte de la planta sujeta a una amplia dispersión, depositándose a menudo muy lejos de la planta madre que las originó. Para los fines de la Geología Económica —especialmente en la geología del carbón y del petróleo— el estudio de los granos de polen y esporas ha llegado a constituir desde hace muy pocos años un nuevo elemento de aplicación práctica —paleoecológico y estratigráfico—. En escasamente veinte años, la palinología se ha desarrollado en forma notable, y no creo exagerar si afirmo que en la actualidad hay más investigadores trabajando en polen fósil que en cualquier otro aspecto de la paleobotánica. Desde un punto de vista puramente botánico el polen adquiere valor en los casos en que se lo puede correlacionar con las estructuras fértiles originarias, y este es en realidad el criterio correcto que deben aplicar los paleobotánicos. Si bien disponemos ya de varios sistemas de clasificación basados en polen y esporas, han resultado ser completamente artificiales, y muchas consideraciones sistemáticas basadas exclusivamente en estas estructuras han sido erróneas. Esto, por supuesto, no resta importancia al estudio del polen para su aplicación en geología económica, en cuyo caso, estos órganos constituyen tipos estructurales constantes tan útiles en los aspectos estratigráficos de correlación.

La cutícula es una membrana impermeable que recubre los tejidos epidérmicos de una planta, en aquellas partes que está en contacto con la atmósfera. Esta membrana posee orificios estomáticos que regulan el intercambio de gases con la atmósfera. Los aparatos estomáticos suelen ser estructuras complejas y especializadas, y su estudio

aporta elementos diagnósticos de gran valor. Estudiando los estomas y otras formaciones epidérmicas, puede deducirse con aproximación el régimen climático a que la planta estaba sometida.

En paleobotánica se abrió un nuevo campo con el estudio de las cutículas fósiles. Su importancia puede juzgarse por los trabajos de R. Florin en Suecia y T. M. Harris en Gran Bretaña. Este estudio ha probado ser valioso no sólo con las plantas fósiles, sino también con las plantas actuales (ver trabajos de Florin sobre Coníferas recientes). En las plantas fósiles, sólo las cutículas de las plantas superiores (Gimnospermas y Angiospermas) suelen estar preservadas. La cutícula de las Pteridofitas es sumamente delicada y de un espesor del orden de las décimas de micrón. Por ello su preservación es prácticamente imposible. En las plantas superiores, en cambio, la cutícula suele ser más gruesa (generalmente más de un micrón) y por ello más apta para su preservación como fósil. El rescate de las cutículas de un sedimento, y su tratamiento posterior no es muy difícil (ver métodos en momificaciones).

En los últimos años han sido revisadas muchas floras fósiles, especialmente mesozóicas, aplicando el estudio de las cutículas. Numerosos géneros de hojas y frondes, que en principio se clasificaban en forma totalmente artificial, han podido ser relacionados con grupos naturales, basándose en sus cutículas. En algunos casos los órganos fértiles aislados tienen membranas cutinizadas, y han podido ser relacionados con las partes vegetativas debido a la similitud en la estructura cuticular. Este tipo de estudio se halla apenas en sus comienzos ya que ha sido aplicado hasta ahora por pocos investigadores, principalmente en Europa.

Las estructuras fértiles de las plantas (y también los frutos o semillas) suelen tener membranas cutinizadas, tanto externas como internas. En una semilla, cuando las condiciones lo permiten, podemos determinar la cantidad de membranas internas y estudiar su posición y su estructura. Este aspecto, es también reciente y su desarrollo abre un campo nuevo y promisorio en paleobotánica.

En nuestro país, y en Sudamérica en general, el estudio de las momificaciones ha sido casi nulo hasta ahora. No tenemos aún investigadores que se dediquen al estudio del polen fósil, y el primer trabajo en el cual aparecen descripciones de cutículas fósiles data de hace 5 años. Este hecho debe servir de aliciente para la gente joven, que sin duda hallará amplias satisfacciones al encarar este tipo de trabajo.

INDICACIONES METODOLOGICAS PARA LA PREPARACION DE PLANTAS FOSILES

Hemos visto los tipos básicos de fosilización en los vegetales. Pasaremos ahora a la parte práctica, que consiste en la forma de coleccionar los fósiles, su preparación y su estudio.

La recolección de material en el campo constituye la primera fase del proceso que conduce al estudio de un organismo dado. Podemos encontrar dos tipos de orientación en el trabajo de campo de un paleobotánico. En los países donde la geología es conocida en detalle, un paleobotánico se dedicará a la explotación de yacimientos en general ya conocidos y estudiados por otros autores. Poco o nada podrá agregar de interés estratigráfico, y su labor se reducirá a la búsqueda de nuevos elementos florísticos. En nuestro país, la geología está aún lejos de ser conocida: hay grandes áreas totalmente inexploradas que probablemente encierran numerosos restos fósiles. Es un hecho que con cada año que pasa vamos descubriendo series sedimentarias nuevas. En tal situación, el paleobotánico deberá dedicarse a la estratigrafía tanto como al aspecto puramente botánico, ya que las consideraciones teóricas de alto vuelo sólo pueden estar basadas en un cuidadoso y abundante acopio de material. Desde este punto de vista, la faz puramente botánica debe en nuestro país estar ligada íntimamente con la geológica. En la práctica, vamos a coleccionar a localidades poco o nada conocidas, de las cuales sólo hay algunos datos dispersos en informes, o bien surgidos de contactos personales. Localizado un yacimiento, hay que hacer perfiles y estudiar cada capa fosilífera con su alcance lateral y vertical. Luego se procede a la recolección de fósiles, documentando prolijamente la procedencia, nivel por nivel. Cuando una flora es nueva, hay que estudiar, no sólo los individuos fósiles en sí, sino su asociación y su distribución vertical. La tarea más importante consiste en encontrar los individuos que se han fosilizado más perfectamente. En general, lo que llama más la atención son las improntas de las hojas; y los geólogos, cuando coleccionan restos para su determinación y datación, lógicamente juntan este tipo de fósil en la mayoría de los casos. Sin embargo, los fósiles más útiles son las compresiones, petrificaciones y momificaciones, que muchas veces no son abundantes ni fáciles de hallar. La tarea fundamental de un paleobotánico en el campo, consistirá en

conseguir fósiles que tengan estructura orgánica preservada, ya que ello le permitirá hacer un estudio más completo del organismo dado.

El acondicionamiento de material para su transporte al lugar del trabajo es también importante. En general, toda muestra debe ir acompañada de un rótulo que indique la procedencia precisa y si es posible, una clasificación provisoria. El fósil y el rótulo nunca deben separarse, para evitar ulteriores confusiones: pueden envolverse en papel de diario. Las muestras pequeñas y las frágiles, tienen que ir en cajas de cartón o en latas, acondicionadas con algodón si es posible. Todos los fósiles así envueltos, se ubican en cajones de madera resistente. Sugiero el uso de aserrín para rellenar intersticios. Esta práctica me ha dado excelente resultado hasta el presente, ya que pocas piezas se han roto o deteriorado en viajes largos, que alcanzaban a veces más de 5.000 kilómetros.

Cuando el material llega al laboratorio, hay que tener lugar para esparcirlo sobre grandes mesas. Cada ejemplar y su rótulo correspondiente se colocan en cajitas de cartón. Con ello, el investigador tiene a la vista todo el material que desea investigar. El primer paso consiste en estudiar los tipos de fosilización presentes para ensayar las distintas técnicas de rescate.

En realidad, cada horizonte fosilífero requiere técnicas especiales de preparación, las que deben ser desarrolladas en cada caso por el investigador. Durante esta parte del trabajo, lo que más cuenta es el ingenio y la capacidad personales. Sin embargo, las técnicas de preparación conocidas se reducen básicamente a unas pocas y los investigadores aplicamos en cada caso meras variaciones de tales métodos.

Hay dos tipos de fósiles: los que tienen materia orgánica preservada y los que han perdido todo rastro de ella. En este último caso, sólo la impresión (impronta) o el molde (interno o externo) se conservan. Comenzaremos describiendo brevemente la técnica para preparar material que no tiene materia orgánica preservada.

1) *Improntas.* — Antes de preparar este tipo de material, hay que corroborar la completa ausencia de materia orgánica (películas carbonosas, generalmente). Luego de este paso se procede a la limpieza del fósil, o sea tratar de exponerlo al máximo. Generalmente las improntas se hallan sobre planos de estratificación de un sedimento, los cuales a su vez constituyen planos de debilidad. Usando estos planos conseguimos desprender los bloques o lajas en el campo. El

mismo principio se aplica en el laboratorio. Si con un cortafrío (cuyo tamaño varía según la dimensión y dureza de la muestra) golpeamos paralelamente o directamente en el plano de estratificación, la roca se abrirá, descubriéndonos la impresión y la contraimpresión de un fósil, incluído en el plano de estratificación (fig. 1). A menudo sólo

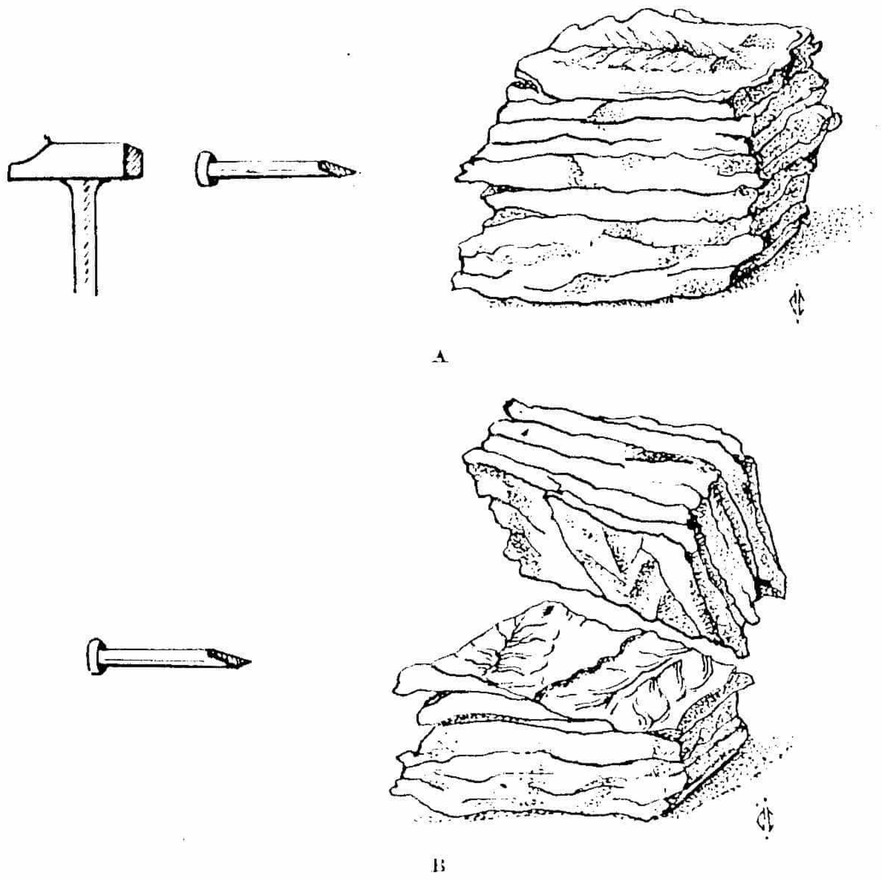

Fig. 1. — En A, se muestra un trozo de roca con estratificación marcada, y en la superficie con indicios de restos de plantas. Con martillo y cortafrío adecuados al tamaño de la muestra, se parte ésta siguiendo aproximadamente uno de los planos de estratificación, hasta obtener un plano con improntas o compresiones de plantas (B) y la respectiva contraimpresión.

quedan al descubierto porciones de improntas. Para remover la roca que oculta el resto de la planta, se continúa con los mismos instrumentos, percutiendo sobre los sectores vecinos a la impronta, y removiendo así trozo por trozo la roca que recubre la planta. A menudo, la muestra se parte en varios pedazos, los que en tal caso tienen que unirse nuevamente con alguna pasta adhesiva fuerte (cola de carpintero, "pegalotodo", etc.). Dentro de lo posible, es importante obtener

la impresión y la contraimpresión de una misma planta, ya que hay caracteres que si bien ausentes en una de ellas pueden estar presentes en la otra. Ambas partes, en una colección, tienen que estar reunidas bajo un mismo número, para evitar confusiones (como una distinta determinación para las contraimpresiones de una misma planta). Este tipo de trabajo requiere práctica y también la utilización de un variado tipo de cortafríos y martillos, para ser aplicados en diferentes casos.

Al terminar el trabajo anterior, expuesta la impronta al máximo posible, se deja el fósil tal cual, sin tocarlo ni cubrirlo con lacas u otras sustancias. El material está listo para su estudio. Esto es importante, ya que si hay algún resto de materia orgánica, ésta quedaría cubierta y su recuperación sería más dificultosa o imposible. Al respecto debo señalar que durante el siglo pasado, y aun en el presente, las improntas a menudo eran cubiertas con lacas "para protegerlas" o bien para que lucieran mejor en la vitrina de algún museo. Actualmente se ha desarrollado el estudio de las cutículas y numerosos investigadores tropiezan con el problema de que las plantas — posiblemente tipos — cubiertas por lacas y que tienen materia orgánica preservada, pierden su valor por la imposibilidad de recuperar la cutícula, deteriorada completamente por este proceso.

2) *Moldes.* — Los moldes externos e internos pueden o no estar relacionados con los planos de estratificación. Al golpear el sedimento que los incluye, generalmente la roca se parte a lo largo del molde, dejando al descubierto una mitad. Rescatar moldes no es una tarea fácil y, por otra parte, no influye mayormente sobre el éxito de una investigación, ya que no proporciona datos de mucho valor en las determinaciones de una planta (salvo el caso en que los tejidos internos estén petrificados).

3) *Petrificaciones.* — La mejor forma de estudiar una petrificación es sin duda mediante la realización de cortes anatómicos. Las petrificaciones más comunes son los troncos fósiles, que en Argentina son muy abundantes. El método biológico del estudio de todo tronco actual se basa en los tres cortes clásicos: transversal, radial y tangencial. El mismo criterio es aplicado para el estudio de los troncos fósiles. Las técnicas petrográficas del siglo pasado, más otros métodos desarrollados en los últimos decenios, permiten obtener secciones delgadas, mucho más duraderas que las secciones de plantas recientes.

a) El primer método para obtener secciones microscópicas de una petrificación es el mismo utilizado por los petrógrafos para realizar secciones delgadas de rocas. Sucintamente, este método consiste en cortar un sector delgado de un tronco, según el plano que se desee, montar ese trozo sobre un portaobjeto con bálsamo de Canadá, y luego pulir o rebajar la sección hasta que sea tan delgada que pueda observarse por transparencia con un microscopio. Para ello, necesitamos dos tipos de máquinas: una cortadora de roca y luego una pulidora. Ambas trabajan con las rocas a base de carborundo (dureza algo mayor de 9), o bien con polvo de diamante (dureza 10).

b) El mismo tipo de máquina se necesita con el segundo método de secciones microscópicas, el método del "peel" (despellejamiento) [1]. Cuando los troncos o las petrificaciones son de tamaño grande, y no se dispone de una cortadora eficiente, se procede a trabajar con porciones reducidas, obteniéndolas con el uso de un cortafrío. En este caso, generalmente separamos esquirlas de corteza, leño y médula. El método del "peel" fue descripto por primera vez por J. Walton (1928) e inmediatamente aplicado por varios investigadores (Koopmans, 1929, Leclercq, 1928, Darrah, 1936, etc.). Básicamente, el mismo método sigue siendo aplicado en la actualidad. El proceso consiste en atacar una superficie pulida con un ácido (si la roca es silícea con HF y si es calcárea con HCl) por un lapso que varía según el fósil. En tal forma, se disuelve la parte totalmente inorgánica, mientras que la parte orgánica queda en relieve. Luego se aplica una película de acetato de celulosa sobre la parte atacada por el ácido, y, al solidificarse, aprisiona las saliencias del relieve. Esta película, al ser despegada cuando seca, arrastra consigo la parte orgánica. En esta forma, la película constituye una sección delgada. En la figura 2 representamos esquemáticamente los pasos de esta operación.

Desde que Walton utilizó por primera vez este método para los "coal-balls" del Carbónico inglés, varios autores han ofrecido peque-

[1] Debido al uso difundido del término *peel*, sugiero que en lengua castellana lo adoptemos, ya que cualquier traducción sería inadecuada: deshollejamiento, despellejamiento, etc.

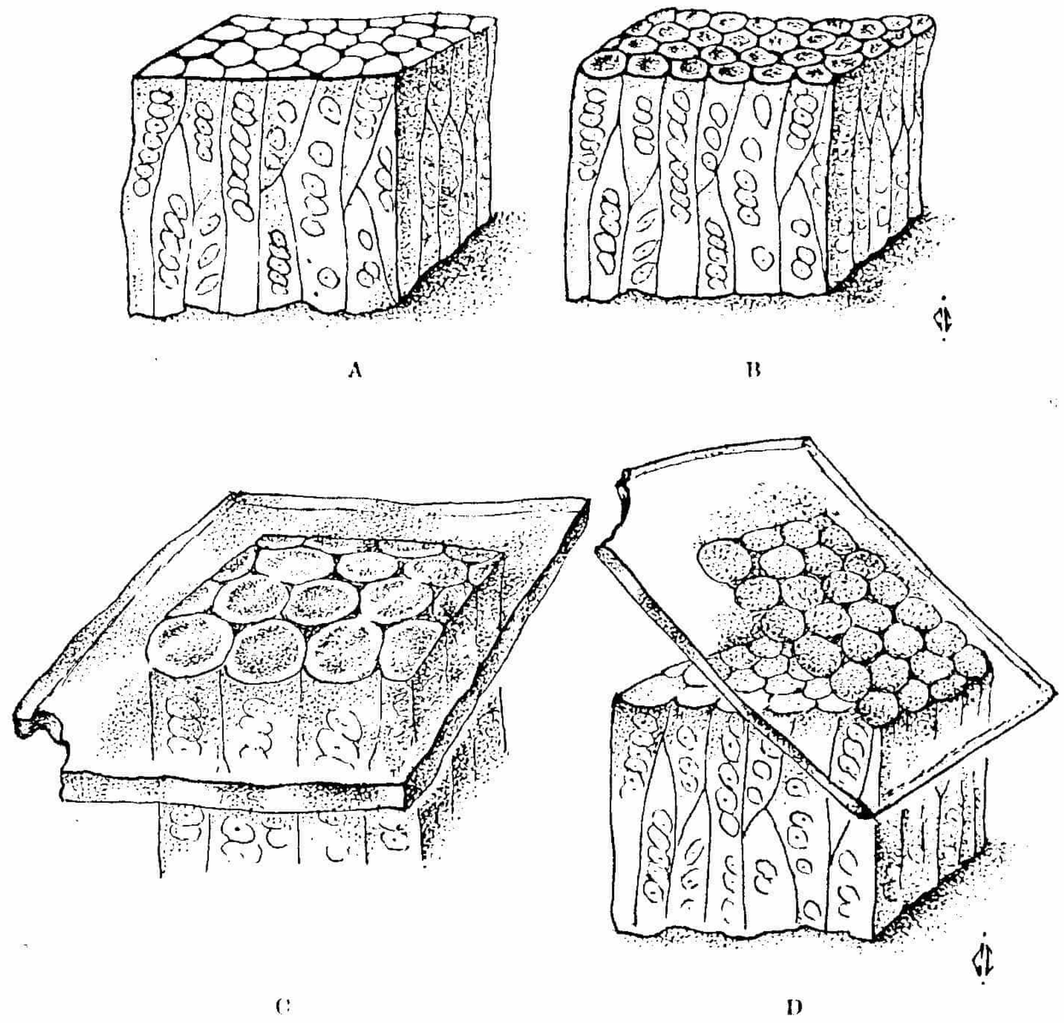

Fig. 2. — *Técnica del «peel» para petrificaciones.* En A se muestra un bloque de una petrificación (xilema de un tronco en este caso) con su plano superior ya pulido. En B, luego del tratamiento con el ácido correspondiente, se puede observar el resultado de un ataque diferenciativo (más carcomida la parte de los lúmenes de las traquéidas y más salientes las paredes de las mismas). En C, puede observarse la película aplicada a la superficie de la petrificación tratada con ácido. Finalmente, en D, se representa la película que se está separando y que arrastra todas las saliencias que corresponden a las paredes de las traquéidas. El tamaño de éstas y el grosor de la película, están exagerados para mayor claridad en la interpretación.

nas variantes (en general consistentes en el uso de distintos tipos o marcas de película). Recientemente, Joy, Willis y Lacey (1957) han desarrollado una variante nueva que difiere de todas las demás, y que se ha aplicado en paleozoología por Sternberg y Belding (1942). En ella se usa una película sólida en vez de la líquida usada previamente. A mi entender, este método ha probado ser más eficiente en varios sentidos, y por ello lo describo con más detalle a continuación.

1) Se corta la petrificación según el plano deseado para obtener una superficie plana. Es importante pulir al máximo esta superficie, utilizando polvo de carborundo de grano mediano y luego grano fino; se puede utilizar además polvo ... fino, hasta obtener una superficie especular. Es importante lavar la superficie pulida cada vez que se cambia de grano, y también luego de terminar el pulido.

2) El paso siguiente es el ataque químico ("etching" de los ingleses). Se utiliza ácido fluorhídrico o clorhídrico, según que la roca sea silícea o calcárea. A veces, si la roca contiene silicatos y carbonatos, deben utilizarse los dos ácidos, en cuyo caso, primero se ataca con HF y luego con HCl.

El HF generalmente se usa diluído al 49 % (o sea tal como viene en las botellas comerciales). El tiempo de ataque es variable según el fósil, y tiene que ser determinado por el investigador efectuando varias pruebas. El HCl se usa siempre diluído, en general del 1 al 5 %. El tiempo de ataque también debe ser determinado en cada caso y puede variar de 1 a varios minutos. Al variar el tiempo de ataque, con el ácido, variará el grosor de la preparación y tendremos por consiguiente distintos tipos de cortes.

Hay dos formas de usar el ácido sobre el fósil. Cuando la muestra es de un tamaño reducido (unos 5 cm de diámetro y menos), se la sujeta con la mano y se la sumerje en el ácido correspondiente dentro de un recipiente (plato, etc.). En el caso del HF, el recipiente puede estar al aire libre pero es preferible colocarlo bajo campana o en una casilla de madera a la intemperie (el manipuleo del HF es peligroso para la vista y para las vías respiratorias, y se recomienda sumo cuidado en su aplicación). La superficie pulida debe estar libre, sin tocar el fondo del recipiente. Esto se logra sosteniendo el fósil con la mano, o bien colocándolo en el borde curvado ...ato o sobre algún taco que lo mantenga inclinado (fig. 3).

La segunda posibilidad es tener la parte pulida hacia arriba (especialmente en los casos en que los troncos son grandes). El ácido en tal caso se vierte sobre la superficie pulida, que tiene que estar en posición horizontal para evitar el derrame del líquido. Pero en esta forma se gasta más ácido, el ataque no es uniforme y además es molesto cuando se debe trabajar con HF.

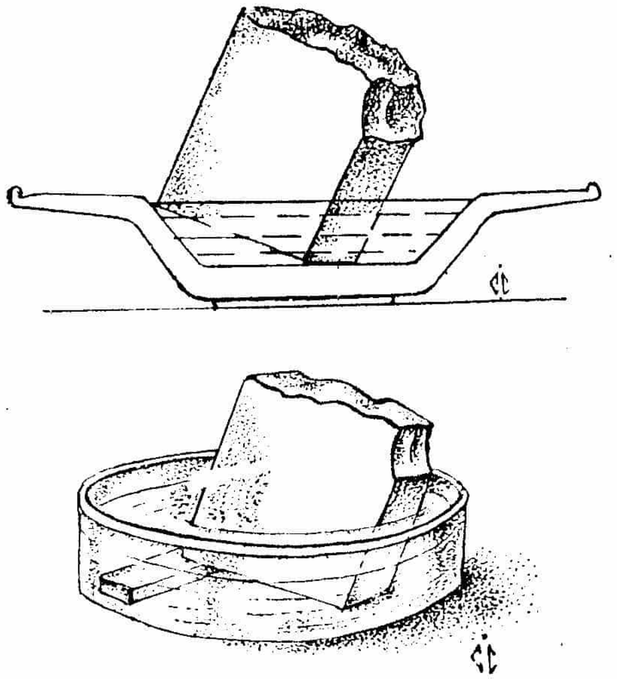

Fig. 3. — Dos tipos de recipientes usados para tratar petrificaciones, las que deben sumergirse en los ácidos con la cara pulida hacia abajo. En el primer caso, la superficie pulida se apoya sobre el borde del plato, mientras que en el segundo se ha colocado un taco sobre el cual se apoya un borde del fósil.

Terminado el ataque con ácido, se lava cuidadosamente la superficie pulida con un chorro suave de agua, y se deja secar. El secado puede acelerarse con alcohol al 95 %. Durante todos estos manipuleos, hay que tener sumo cuidado en no tocar con los dedos la superficie pulida.

3) El siguiente paso es la aplicación de una película sobre la superficie pulida y atacada con ácido. Al principio, Walton usó soluciones de nitrocelulosa dispersa en acetato de amilo. El uso de este tipo de película ofrecía, sin embargo, algunos inconvenientes: era muy inflamable, se coloreaba luego de un cierto tiempo y también se contraía con los años. Posteriormente, Walton (1951) usó, con mejor resultado,

acetato de celulosa disuelta en acetona (20 % de acetato de celulosa en 130 g de acetona). Antes de usar este líquido viscoso, Walton lo diluye al doble con tetracloretano. Esta película es más ventajosa, ya que es menos inflamable, y no se colorea con el tiempo. Otras películas líquidas han sido ensayadas por distintos autores, con resultados semejantes (gelatina, colodión, parlodión).

La innovación propuesta por Joy, Willis y Lacey es muy importante, ya que en vez de usar una película líquida, que requiere tratamiento previo, se usa una sólida de acetato de celulosa. Se corta un trozo de esta película (que es muy semejante al papel de celofán) de la medida correspondiente al fósil, se vierte acetona sobre el fósil usando un

Fig. 4. — Frasco de material plástico para acetona

frasco plástico como el ilustrado en la figura 4 y se aplica la película suave y rápidamente, antes de que la acetona se evapore. Se recomienda tener la superficie pulida algo inclinada, para que se forme un depósito de acetona en el borde inferior, el que se utiliza como punto de partida al aplicar la película. La cantidad de acetona que se vierte sobre el fósil, tiene que ser reducida, ya que si aplicamos la película sobre una superficie muy mojada, la acetona, al evaporarse, producirá arrugas muy fuertes en aquélla, así como burbujas. Al respecto debo agregar que esta es una simple cuestión de práctica, que requiere la realización de varios "peels" por un investigador, antes de tomar el *tempo* y *modo* correctos.

Se deja secar la película durante 15 a 20 minutos y luego se la despega cuidadosamente. Para facilitar esta operación, conviene siempre que la película sea mayor que el fósil, para que sobresalga un poco. Estas saliencias pueden ser aprovechadas como asidero al separar (arrancar) la película de la roca.

La película así obtenida corresponde a un corte anatómico, y puede guardarse en un sobre o montarse en bálsamo de Canadá, en cuyo caso conviene siempre mojarla previamente en xilol. Al aplicar el cubreobjeto, hay que dejarlo bajo presión durante horas o días, hasta que el bálsamo se solidifique. Con ello se evita la formación de burbujas por la tendencia que tiene a curvarse la película sólida.

Las ventajas de la utilización de una película sólida son varias: 1) El tiempo en que se aplica y se seca es reducido (en 30 minutos la sección está hecha, mientras que con la líquida hay que esperar horas y aun días. 2) Usando la película sólida el grosor de las secciones es siempre uniforme, mientras que con la líquida éste varía de una sección a otra. 3) No se necesita ninguna preparación de soluciones que requeriría tiempo adicional. 4) La película sólida es más barata y puede comprarse directamente en casas de comercio [1].

Las películas de acetato de celulosa pueden tener grosores variables y por lo tanto pueden ser utilizadas con distintos criterios. El grosor normal de una película sólida es de 0.05 mm. Pueden tomarse "peels" más delgados, especialmente en el caso de fósiles pequeños. Las películas más gruesas se emplean en general para tomar "peels" de troncos de diámetro considerable (50 cm o más).

Esta técnica del "peel" ofrece, sin embargo, una desventaja, que es la contracción con el tiempo. Varios autores han estudiado el coeficiente de contracción; aunque éste no es muy grande, conviene siempre tomar la medida del block del cual se ha efectuado el "peel" y tenerla anotada sobre el mismo, o en el sobre correspondiente. En tal forma, si se realizan mediciones posteriores, se tendrá fácilmente el factor de corrección.

La ventaja del método del "peel" sobre las secciones petrográficas son muchas. El tiempo en que se prepara un "peel" es ínfimo comparado con el tiempo que se tarda en realizar una sección petrográfica. Tampoco hay pérdida de material con el "peel", mientras que con secciones petrográficas, utilizamos varios milímetros de roca para lograr una sección, y al tratarse de ejemplares únicos, caso muy común, el investigador muchas veces no se anima a hacer más de un corte. Con el "peel", podemos realizar decenas en 1 mm de espesor y en tal

[1] En Argentina aún no he hallado ese tipo de película que en Gran Bretaña se conoce como "Clarifoil", Cellulose Acetate Film, que tiene distintos grosores.

forma, tener secciones seriadas, como las que se obtendrían con plantas recientes usando el micrótomo.

Algunos autores han realizado transferencias de "peels" sobre portaobjetos. Se usa albúmina de huevo para fijarla sobre el portaobjeto y luego se disuelve la celulosa con algún solvente. El método fue desarrollado por Duerden (1931) y para más detalles recomiendo consultar el trabajo.

El método del "peel" no se puede usar con todas las petrificaciones. Una condición básica es que los tejidos orgánicos fosilizados tengan una coloración diferente de la matriz. A veces, cuando el contraste no es pronunciado, los resultados son pobres o nulos. Puede teñirse tales "peels" con colorantes clásicos (safranina, azul de metileno, hematoxilina, etc.) y a vaces la imagen se mejora. En algunos casos, cuando la petrificación es silícea y uniformemente coloreada, es imposible obtener secciones en las que se puede observar algún detalle estructural. Walton (1923) ha utilizado un método que le permitió observar algunos detalles estructurales de leño (puntuaciones areoladas). Mediante golpes al azar, separó fragmentos en forma de pequeñas astillas (pocos milímetros). Así pudo observar con microscopio y luz reflejada casi rasante, las puntuaciones de traquéidas que sobresalían con un cierto relieve. Menéndez (según comunicación verbal) ha usado también un procedimiento que le ha permitido obtener detalles estructurales de petrificaciones silíceas con poco contraste. Luego de atacar con ácido la superficie pulida, toma negro de humo (en pasta con alcohol o bencina) y aplica una capa sobre la parte plana; luego la frota sobre una superficie lisa (cartulina, por ejemplo) y repite este proceso varias veces. El carbón penetra en las ranuras de la parte carcomida por el ácido. Luego se aplica el "peel". Como resultado, el negro de humo se arrastra sobre la película y deja marcados los contornos de estructuras.

La realización de muchas secciones delgadas con gasto muy reducido de material, abre nuevas perspectivas para el canje de secciones con numerosas instituciones, inclusive de material tipo.

4) *Compresiones.* — Los métodos que permiten rescatar las incrustaciones de la matriz que las incluye, varían según el tipo de material. Las incrustaciones pueden ser compactas (duras) o frágiles (blandas); pueden ser láminas delgadas de materia orgánica o bien gruesas, con mucha materia carbonosa. Al mismo tiempo, la matriz puede ser compacta o friable.

En todos estos casos, el objeto del investigador es tratar de separar la incrustación (parte orgánica fosilizada) de la matriz circundante. Cuando esta matriz es muy friable o con alto porcentaje de material calcáreo, basta con sumergir la muestra en agua (a veces calentando o hirviendo por un cierto tiempo) con lo cual se logra disgregar los granos de la roca, rescatando las compresiones. He aplicado este método con las compresiones de ciertos niveles plantíferos de nuestro triásico de Ischigualasto, con excelente resultado.

Cuando la roca es más compacta, a veces se la puede ablandar sumergiéndola en ácido nítrico y clorato de potasio por varias horas o días, y el oxígeno que se desprende durante la oxidación de la materia orgánica disminuye la compacidad de la roca, disgregándola. En este procedimiento, la materia orgánica carbonizada a menudo se disuelve y sólo las cutículas, esporas o partes lignificadas pueden ser rescatadas. Este método se conoce como *bulk-maceration* (maceración en masa) y será descripto con más detalle en el capítulo referente a momificaciones.

A veces las incrustaciones se rescatan como cuerpos frágiles y porosos, con mucha materia orgánica. Podemos realizar su estudio anatómico desmineralizando el fósil (eliminar en lo posible todos los restos de la matriz en los intersticios, dejando sólo la materia orgánica) y luego ablandándola. Según el tipo de material se emplean diversos procedimientos para prepararlo. En general se usa HF para desmineralizar, atacando luego con un álcali fuerte por cierto tiempo (a veces en caliente). Como resultado final, se pueden realizar secciones anatómicas con micrótomo, incluyendo el fósil en parafina o celoidina, y siguiendo el mismo procedimiento usado con las plantas vivas. Este tipo de fósil no es común, sin embargo; me remito para mayores detalles a los autores que han utilizado estos procedimientos (Halle 1933, H. Thomas 1925, Jeffrey 1928, Harris 1953).

A veces se necesita simplemente reforzar un fósil frágil o poroso, para poder seccionarlo petrográficamente o bien mediante "peels", o simplemente para estudiarlo macroscópicamente. Para manipular el fósil sin riesgo de fractura, se lo incluye en algún plástico. Para mayores detalles, véanse los trabajos de Leclercq y Discry (1950) y Leclercq y Noel (1953).

La forma más común de preservación de las incrustaciones no permite el uso de las técnicas descritas precedentemente. Cuando la matriz es muy dura y el fósil simplemente una lámina delgada y muchas

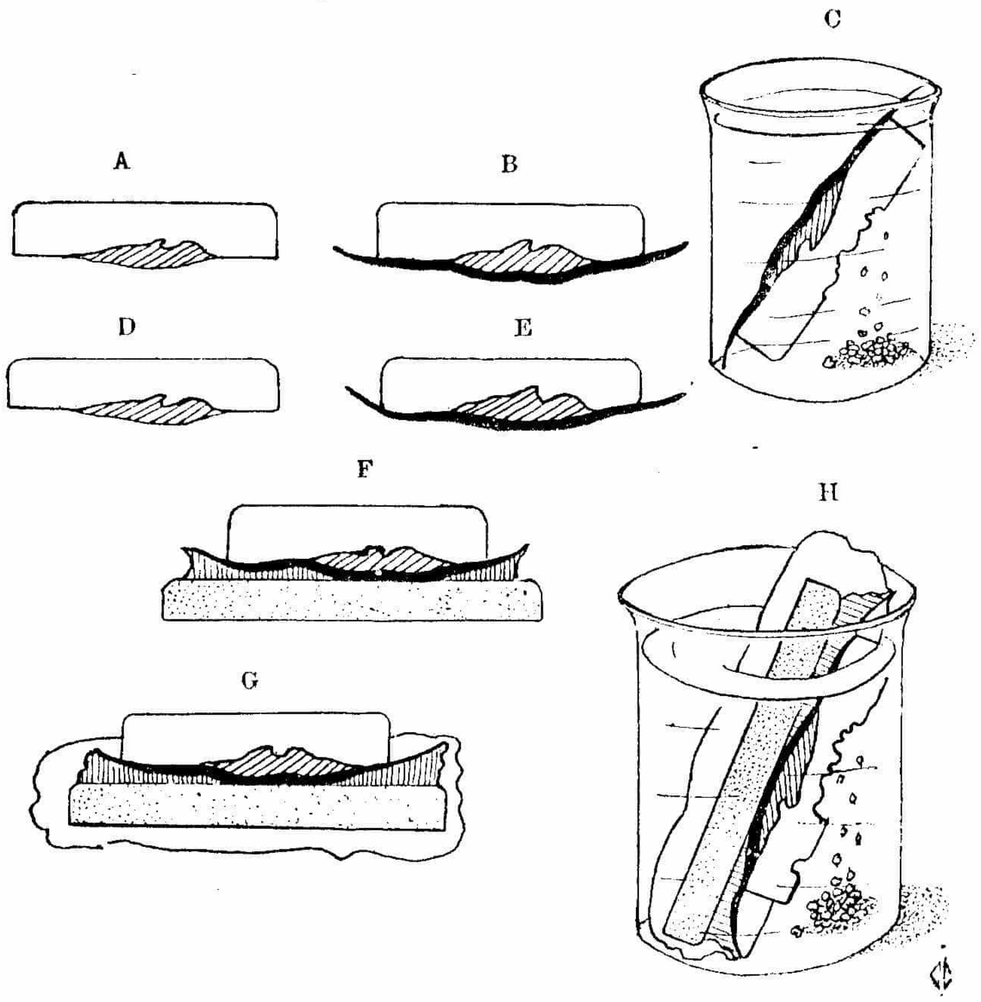

Fig. 5. — En A, B y C, se muestra esquemáticamente una transferencia siguiendo el método de Ashby. En D, E, F, G y H, se muestra esquemáticamente el método de la transferencia original (Walton).

Indicaciones: roca fósil comprimido película bálsamo vidrio

En G y H, las preparaciones están cubiertas de parafina (también en blanco).

veces frágil (hojas, frondas, pecíolos, raquis) podemos recurrir al método de la transferencia (Transfer). Este método ha sido propuesto por Walton (1923*b*) y posteriormente mejorado por el mismo autor (1928). La transferencia consiste, como el nombre lo indica, en transferir el resto orgánico de un fósil incluído en una matriz, a un

portaobjeto: esta técnica lamentablemente no está difundida y ha sido aplicada generalmente por paleobotánicos británicos. Mediante este método, se han podido estudiar detalladamente muchas fructificaciones, o bien se ha podido agregar información suplementaria con detalles muchas veces microscópicos (como pelos, glándulas, bordes de compresión, etc.). Para transferir un fósil, se procede de la siguiente manera (fig. 5, D-H):

a) El trozo de roca que contiene la compresión se reduce a un tamaño mínimo. La superficie que contiene la incrustación debe ser lo más plana posible.

b) Se cubre la superficie del fósil con una solución de acetato de celulosa (el mismo líquido usado para "peel") y se deja secar. La película debe ser preferentemente gruesa, para lo cual puede repetirse la operación dos veces.

c) Calentamos bálsamo de Canadá sobre un portaobjeto que pueda sostener el fósil dado, y se adhiere éste por la superficie plana (con la compresión cubierta por la película) al bálsamo. Evitar burbujas. Se deja enfriar.

d) Si la roca es gruesa, se la rebaja en lo posible con carborundo.

e) Se moja la roca con unas gotas de agua y se baña todo el conjunto en parafina hasta conseguir un abrigo relativamente grueso. Luego se remueve la parafina que cubre la roca.

f) Se sumerje la preparación en HF dentro de un recipiente plástico, en tal forma que el ácido actúe sobre toda la superficie de la roca y la matriz pueda desintegrarse y depositarse en el fondo libremente (fig. 5).

g) Cuando la matriz ha sido removida, se seca la preparación y se lava cuidadosamente con agua. Se remueve la parafina y se obtiene la incrustación fijada en la película de acetato de celulosa montada sobre bálsamo de Canadá.

En esta forma, la planta puede observarse con una lupa binocular y en caso de que la lámina carbonosa sea muy delgada, incluso pueden verse detalles de la estructura celular, con un microscopio.

La aplicación de rayos infrarrojos, hace posible aumentar la trasluicidez de capas carbonosas delgadas. Al respecto, Walton (1935) ha demostrado que si usamos película sensitiva a los rayos infrarrojos,

obtendremos fotografías que revelarán muchos detalles estructurales que de otra manera quedarían invisibles.

Este procedimiento es, sin embargo, largo y dificultoso, y presenta el inconveniente de que el fósil está siempre montado en bálsamo, y por lo tanto es difícil de removerlo sin dañarlo.

Ashby, en Lang (1926), ha propuesto una variante de este método, que denominó "transferencia sobre película de celulosa" (conocida como "método de Ashby (fig. 5 A-C). En un principio, se procede igualmente como con una transferencia común (pasos *a* y *b*). En vez de montarlo en bálsamo, se sumerge el fósil directamente en HF. Se obtiene entonces la compresión transferida a la película celulósica, la cual, en caso de necesidad, puede montarse en bálsamo. En realidad, la compresión adherida a la película, si no es muy frágil, puede ser rescatada de la misma, disolviéndola con acetona. (Esto se aplica, generalmente, para poder macerar libremente la compresión con NO_3H y conseguir la cutícula).

La variante de Ashby es en general más ventajosa, pues se obtiene una película plana. Además, en el caso de partículas reducidas, o bien de organismos pequeños, podemos observar el fósil por transparencia.

En este capítulo podemos incluir otro método de transferencia de una compresión sobre la película de acetato de celulosa. El método se conoce como "pull" ("peel" seco) y consiste simplemente en cubrir el fósil con la película de acetato de celulosa, dejarla secar y luego separarla. La película arrastra parte de la materia carbonosa. Por lo general no se logra con este procedimiento transferir o arrastrar toda la materia orgánica, pero en esta forma pueden obtenerse ciertas estructuras celulares, como las cutículas, p. ej., y observarse por transparencia. Las cutículas se pueden separar de la película disolviéndola en acetona. Personalmente he aplicado el método del "pull" con material Carbónico y Jurásico Argentino, con resultado satisfactorio. Tanto el "pull", como el método de Ashby tienen ventaja sobre el método original de transferencia, en el hecho de que el tamaño del fósil no es obstáculo, ya que no tenemos que reducirlo a las medidas de un portaobjeto dado. Son fáciles de obtener "pulls" de varios cm^2.

Existen otras variantes de transferencia que básicamente son las mismas como, por ejemplo, la de Abbott (1950 y 1952). En algunos casos, sin embargo, ninguno de los métodos mencionados ofrecía resultado satisfactorio. Danzé (1953 *a*) desarrolló otra variante para fósiles

carbónicos de Francia. Este procedimiento consiste en plastificar y consolidar luego una compresión (usado para frondes, hojas o compresiones delgadas) antes de realizar la transferencia. La plastificación ha sido obtenida sumergiendo el fósil por 18 horas en un solvente de carbón *(piridina pura)*. La consolidación se obtiene con un plástico de gran poder adhesivo (bakelita 35-35) por unas 14 horas, a temperatura ambiente, y antes de que el plástico se solidifique, se aplica nitrato de celulosa más acetato de amilo (la película de los "peels" originales) que formará con la bakelita lo que Danzé denomina "película mixta". Luego se procede igual que en el método de Ashby, o sea, sumergiendo la roca en HF, etc. El resultado ha sido satisfactorio, y el rescate de materia orgánica ha sido apreciable.

Finalmente, es conveniente a veces macerar un poco con NO_3H la compresión aún incluída en la roca. Con ello se puede facilitar el proceso de la transferencia sin dañar mayormente el fósil. La película con la compresión adherida, puede también macerarse en ácido nítrico unos pocos minutos, y así clarificar la materia orgánica. Esto lo he hecho con transferencias de *Rhacopteris* en las que la materia orgánica estaba fracturada en pequeños trozos, los que estaban cementados por la película. En esta situación era difícil obtener porciones aceptables de la planta disolviendo la acetona. Macerando por 5 minutos, logré clarificar bastante los limbos y se pudieron observar estructuras celulares.

5) *Momificaciones.* — En este capítulo se tratará el rescate y preparación de las cutículas y se efectuará una breve revisión de las técnicas para tratar de rescatar polen y esporas incluídos en sedimentos.

Las cutículas suelen ser más resistentes a la oxidación que el resto de la materia orgánica fosilizada. En muchas compresiones es, pues, común encontrar las cutículas fuertemente adheridas a la materia orgánica reducida a una delgada película carbonosa, y con los detalles estructurales completamente borrados. Las cutículas, debido a su resistencia, conservan generalmente todos los detalles de la epidermis y, por ello, su estudio es valioso. La epidermis es un tejido de protección especializado, y su estudio es importante para la taxonomía paleobotánica. Asimismo, las semillas o los frutos, suelen tener membranas cutinizadas, no sólo externamente, sino internamente (nucelo, tegumentos, megasporas). Estas membranas pueden ser rescatadas en la misma forma.

Cuando la roca es muy friable, y las compresiones no están cementadas, podemos separarlas simplemente de la matriz con agujas. Otras veces podemos usar el método de Ashby y obtener una transferencia sobre una película celulósica, que disolvemos luego con acetona para rescatar el fósil y tratarlo con ácido nítrico. También pueden utilizarse "pulls". Si la roca no es muy friable, podemos rescatar las compresiones incluídas en todo el volumen de la roca dada, usando el método propuesto por Harris en 1926: "bulk-maceration". Este método se usa especialmente con lutitas y fangolitas. Los distintos pasos son los siguientes:

a) Sumergir varios fragmentos de roca fosilífera por varios días en NO_3H fuerte, con 5 % de ClO_3K. Los fragmentos de roca se ablandan y, a veces, se disgregan algo debido a la evolución del gas, por la oxidación de la materia orgánica.

b) Se remueve el ácido y se lava con agua.

c) Los fragmentos de la roca, ablandados y disgregados, se sumergen en HONa diluído. Con ello los trozos más resistentes se disgregarán y se obtendrá un precipitado fangoso, mientras que el líquido se vuelve oscuro.

d) Los fragmentos de fósiles (cutículas con algo de resto orgánico) se rescatan con tamices o simplemente con pinzas.

e) Los fragmentos de fósiles así obtenidos pueden ser limpiados en HF 25 %.

El material rescatado suele ser muy fragmentario, pero suficiente para el estudio anatómico de la epidermis. El fango resultante, puede contener muchos microórganos y, por lo tanto, conviene retenerlo para su posterior tratamiento en búsqueda de esporas, etc. Podemos efectuar una separación mecánicas de los restos fósiles obtenidos, utilizando tamices correspondientes para separar los trozos grandes, medianos y pequeños (frutos, semillas, megasporas, etc.).

En el caso de que una roca sea calcárea, se procede a disgregarla con HCl y si es silícica, con HF.

Las cutículas así obtenidas, tienen aun cierta materia orgánica adherida. Estas compresiones y momificaciones, tienen que ser tratadas para eliminar todo resto de materia carbonosa. Esto se logra mediante el método de la maceración que consiste en oxidar fuertemente la

sustancia carbonosa y luego lavar el residuo, previo tratamiento con álcali para disolver las materias húmicas.

Para efectuar una maceración efectiva de un fósil, conviene siempre separar ambas cutículas, para permitir una acción más efectiva del ácido.

La maceración puede efectuarse en una cápsula de Petri, en tubos de ensayo o directamente sobre un portaobjeto. La maceración sobre un portaobjeto es ventajosa, ya que podemos observarla con lupa binocular y podemos detener el proceso en el momento deseado.

Para distinto tipo de material el tiempo de maceración varía grandemente. Por ejemplo, con las plantas jurásicas de Yorkshire (Inglaterra) o bien con plantas triásicas de Ischigualasto (San Juan), se requiere a veces 24 horas, mientras que con plantas jurásicas de Ticó (Santa Cruz), con una hora era suficiente (a veces menos). El tiempo de maceración también depende de la resistencia de la cutícula (por ejemplo, las membranas cutinizadas de las megasporas, nucelos o tegumentos de ciertas semillas son tan delicadas que corremos el riesgo de disolverlas si maceramos por mucho tiempo). Es por ello que el tiempo de maceración debe ser establecido por el investigador en cada caso particular.

Básicamente, la maceración consiste en usar NO_3H y ClO_3K (reactivo de Schultze). Puede efectuarse la operación en frío o en caliente. La maceración es más débil si usamos ácido solo, y si lo diluímos es más débil aún. Tenemos, pues, que usando la combinación de ácido nítrico y clorato de potasio en frío o en caliente, podemos variar la intensidad de la maceración según se desee:

NO_3H y ClO_3K en caliente ——→ muy fuerte
NO_3H y ClO_3K en frío ——→ fuerte
NO_3H ——→ mediana
NO_3H diluído ——→ débil a muy débil.

La preparación de las cutículas de las plantas recientes, requiere exactamente el mismo tratamiento.

El paso siguiente consiste en tratar el fósil con álcali diluído (5 % o menos de HONa, HOK, CO_3Na_2, o más frecuentemente $HONH_4$). La cutícula se vuelve más rígida y generalmente se tiñe de un color pardusco. Con esta operación disolvemos los restos de sustancias húmicas

que se eliminan con posterior lavado en agua. Es importante, ya que los restos húmicos imperceptibles, pueden molestar en el montaje final con la formación de burbujas.

La cutícula, en este estado, puede conservarse en agua por tiempo indefinido, o bien puede ser montada. Como medio de montaje, recomiendo la glicerina-gelatina, con algo de safranina, que teñirá la cutícula y permitirá la diferenciación de las distintas capas de cutina. Por otra parte, los detalles estructurales de la cutícula, se observan mucho más claramente que montando en bálsamo o glicerina-gelatina. La glicerina-gelatina se prepara antes de ser usada, agregando unas pocas gotas de safranina, que le darán al conjunto un color rosado a rojizo. Demasiada safranina teñirá las cutículas muy intensamente; esto debe evitarse; el teñido ha de ser suave, nunca intenso.

Para preparar polen fósil hay muchos métodos, que se pueden consultar en la copiosa literatura palinológica. Básicamente, los reactivos que se usan son los mismos. Si queremos extraer los microorganismos de una roca dada, mediante tratamiento con sucesivos ácidos, debemos disolver o disgregar la matriz. Los carbonatos se eliminan con HCl, los silicatos con HF, la materia carbonosa con NO_3H y amoníaco. Luego de este tratamiento, pueden quedar residuos orgánicos que no sean polen (traquéidas, fibras, etc.). Si se acetoliza, se eliminará la mayor parte de estos residuos.

Hay dos tipos de rocas de las cuales podemos extraer polen. Rocas con alto porcentaje carbonoso y rocas con bajo porcentaje de carbón. En el caso de que la roca contiene más de 50 % de materia carbonosa se procede de la siguiente manera [1] :

1) Se muele el material en partículas menores de 0,5 cm.

2) En un vaso de precipitado se agrega NO_3H concentrado a unos 5 cc de muestra. Se deja hasta que ésta se disgregue (el carbón tarda una semana; el lignito 48 horas). Si durante la primera media hora ocurre poca o ninguna efervescencia se agrega lentamente ClO_3K, revolviendo, hasta que haya exceso. Si hay calentamiento, enfríese, y si la mezcla amenaza ebullir, agréguese agua. Si la reacción es tranquila, dejar así de 1 a 7 días.

[1] La primera y la segunda técnicas que se describen a continuación son usadas por W. Chaloner, destacado palinólogo de la Universidad de Londres. Las reproducimos con su gentil consentimiento.

3) Diluir la mezcla con agua en un vaso de precipitación de medio litro y dejar una hora; decantar luego el líquido. Agregar suavemente agua, reposar y decantar.

4) Agregar un exceso de 50 % de solución de amoníaco 0,880 (o bien HOK). Dejar 6 horas o toda la noche, agitando de vez en cuando.

5) Pasar por un tamiz y lavar los fragmentos grandes; al material que pasa por un tamiz de 0,5 mm, dejarlo reposar por 1 hora y luego lavar y decantar. Montar una gota de residuo con glicerina-gelatina y safranina. Analizar las partículas más gruesas montadas en agua o en seco, con microscopio binocular.

En los casos en que la materia carbonosa de la roca está en proporción menor del 50 % se utiliza el siguiente método:

1) Pulverizar el ejemplar hasta partículas menores de 1 mm.

2) Si el ejemplar estudiado reacciona con HCl (efervescencia), agregar unos 100 ml de HCl 50% en un recipiente, dejar hasta que termine la efervescencia y luego calentar hasta ebullición. Si con agregado de HCl fresco no hay más reacción, dejar una hora y decantar, reteniendo el residuo.

3) Tomar unos 2 cc de material y ponerlo en 20 ml de HF comercial por 24 horas. Si no se observa disminución de volumen, decantar y agregar otros 20 ml de HF en crisol de níquel, calentando hasta ebullición dentro de una campana de protección. Luego dejar por una hora.

4) Decantar el HF, y verter el residuo en tubo de centrífuga que contenga hasta la mitad HCl al 20 % y luego agregar el mismo ácido hasta completar el volumen del tubo, agitando. Centrifugar y desechar el líquido incluyendo la sílica-gel, que se halle sobre el residuo. Repetir si es necesario.

5) Agregar al residuo 10 ml de NO_3H al 50 %, transferir a una cápsula de evaporación y dejar en campana de vidrio por 3 minutos. No calentar. Transferir nuevamente a un tubo de centrífuga, llenar de agua, centrifugar y decantar el líquido.

6) Agregar 10 ml de una solución al 25 % de amoníaco 0,880. transferir a una cápsula de evaporación y calentar hasta ebu-

llición. Transferir a un tubo de centrífuga, llenar de agua, centrifugar y decantar.

7) Agregar alcohol (o acetona) hasta llenar el tubo, agitar hasta remover el residuo, centrifugar. Repetir.

8) Agregar bromoformo, hasta 1/3 del tubo y agitar hasta dispersar el residuo (si el residuo no se dispersa, la deshidratación es incompleta y deberá repetirse el paso 7). Centrifugar, y la mitad superior del líquido (que contiene los microfósiles) se decanta y se tiene en un tubo. El resto se decanta en una botella con residuos de bromoformo.

9) Diluir la capa superior del bromoformo con acetona hasta llenar el tubo. Centrifugar y decantar (nuevamente en la misma botella).

10) Llenar el tubo con acetona, agitar hasta que se disperse el residuo, centrifugar y decantar el líquido.

11) Agregar unas pocas gotas de agua destilada al residuo para facilitar la transferencia a un tubo pequeño señalado con una etiqueta que contiene los datos del ejemplar tratado; agregar glicerina-gelatina y sellar el tubo. Montar una gota de material en glicerina-gelatina y safranina.

Otra variante consiste en la acetolización del material (igual al método que utiliza Erdtman en polen reciente).

La primera parte es idéntica al método anterior. Se pulveriza el material, se trata con HCl para eliminar carbonatos y luego, con HF se eliminan los silica-gel y se disuelve la sílice. Se lava luego con agua y se centrifuga. El paso siguiente consiste en lavar con ácido acético. Luego se acetoliza. Al material se le agrega, gota por gota, una mezcla de 1 parte de SO_4H_2 concentrado y 9 partes de anhídrido acético, y en baño maría se lleva a ebullición por 2 minutos. Esta operación requiere mucho cuidado, ya que la reacción es muy fuerte, los tubos de ensayo pueden romperse y la mezcla acetolítica reaccionará violentamente con el agua. Luego se decanta, se lava en ácido acético y posteriormente con agua. Más tarde hay que deshidratar con lavajes sucesivos en 3 alcoholes. Después se prepara una mezcla separadora de bromoformo/alcohol de un peso específico 2,2 a 2,4 que se agrega al sedimento; por flotación se formará una capa superior que tendrá concentrados todos los microorganismos, y el residuo estará constituído por sustancia inorgánica y algunos restos de organismos más grandes. Finalmente, se lava en alcohol varias veces para eliminar el bromoformo y se guarda el residuo en un tubo numerado, con glicerina. Se lo puede sellar también con parafina, y así las muestras se conservan por mucho tiempo. Cada vez que se requiera hacer una preparación, se saca una gota de esta glicerina, y se monta en un portaobjetos.

Las preparaciones defintivas pueden hacerse con glicerina-gelatina y safranina. Otros palinólogos usan simplemente glicerina, y sellan las preparaciones con esmalte de uñas, para evitar la evaporación de la glicerina.

Preparado el fósil, se procede a su estudio. Un aspecto sumamente importante, es la ilustración de un fósil dado. Preferentemente, la fotografía es la ilustración más importante. Se debe conseguir el máximo contraste de la forma o de las estructuras estudiadas. Si se utilizan placas o películas infrarrojas, se pueden fotografiar ciertas estructuras que no se localizarían con una película común, como la venación de pínnulas carbonizadas y transferidas; para más detalles al respecto véase Walton (1935).

A menudo las compresiones no se destacan sobre la roca (no hay mayor contraste de color o tono). Se puede fotografiar el ejemplar sumergido en xilol, y se logrará mayor contraste de la parte carbonizada. Esta práctica es muy común, y ha probado ser exitosa en muchos casos.

Si bien la fotografía es quizás la ilustración más perfecta, tenemos que realizar al mismo tiempo dibujos que aclaren o que transmitan la interpretación de una estructura dada. Por ejemplo, los estomas pueden ser fotografiados en 2 ó 3 niveles focales distintos, pero sólo con un dibujo podremos representar el conjunto esquemático de las células integrantes de esa estructura. Al mismo tiempo podremos reconstruir cortes transversales de los estomas, los que indudablemente responderán a la interpretación personal de cada investigador. En general, los dibujos tienen que exponer claramente las evidencias que el investigador considera en la diagnosis o en la descripción.

Luego de la preparación, descripción e ilustración de un fósil, éste tiene que ser acondicionado e introducido en la colección. Toda la documentación necesaria debe acompañar al ejemplar (fig. 6). Cada ejemplar tiene su número y lleva la documentación en la etiqueta que lo acompaña. Al mismo tiempo, debe hacerse una ficha específica,

que ingresa a un fichero en el cual el investigador interesado encontrará la ubicación y documentación de cualquier especie que deseare observar. Finalmente, se recomienda tener un libro de entradas, en el cual se van registrando todos los fósiles a medida que llegan al laboratorio. La conservación y la documentación de los fósiles es un aspecto muy importante.

He tenido oportunidad de revisar colecciones clásicas que han perdido su valor original por el deterioro o pérdida de la documentación.

Finalmente, se adjunta al presente trabajo una lista de referencias bibliográficas que serán de utilidad para aclarar muchos aspectos introducidos en las páginas precedentes.

MUSEO DE LA PLATA

COLECCION PALEOBOTANICA

N° 10.000

Rhexoxylon piatnitzkyi Brett y Arch.

Loc. Ischigualasto, Prov. de San Juan

Leg. Archangelsky *19* 58

Det. Brett y Archangelsky

Ho iz. Formación Ischigualasto, Serie Agua de la Peña, Triásico

Obs.

HOLOTIPO

Fig. 6. — Modelo de etiqueta en la que se registran los datos correspondientes a un fósil

BIBLIOGRAFIA

ABBOTT, M. L. 1950. *A Paleobatanical Transfer Method.* — Journ. of Paleont. XXIV, 5.

ABBOTT, R. E. y ABBOTT, M. L. 1952. *A simple Paleobotanical Transfer Technique.* Ohio Journ. Sci. LII, 5.

DANZÉ, J. 1953. *Sur quelques méthodes d'introspection Paléobotanique.* — Bull. Soc. Bot. Nord de la France VI.

— 1953. *Una nouvelle méthode de transfert des limbes fossiles carbonifères.* — C. R. Soc. Géol. France, nº 11.

DARRAH, W. C. 1936. *The peel method in Paleobotany.* — Botanical Mus. Leaf., Harvard Univ. IV.

DUERDEN, H. 1931. *On the preparation of Cellulose Films of Fossil Plants.* — Ann. of Botany XLV.

HALLE, T. 1933. *The structure of certain fossil spore-bearing organs beleived to belong to Pteridosperms.* — Kung. Sv. Vet. Hand. XII 6.

HARRIS, T. M. 1926. *Note on a new method for the investigation of Fossil Plants.* — New Phyt. XXV.

— 1953. *Conifers of the Taxodiaceae from the Wealden Formation of Belgium.* — Mém. Inst. Roy, Sc. Nat. Belgique nº 126.

JEFFREY, E. C. 1928. *Technical contributions. I. Improved method of softening hard Tissues.* — Bot. Gaz. LXXXVI.

JOY, K. W., WILLIS, A. J. y LACEY, W. S. 1956. *A rapid cellulose Peel technique in Palaeobotany.* — Ann. Bot. n. s. XX.

KOOPMANS, R. G. 1929. *Celluloidpreparat austatt Dunnschliff.* — Jaarverslag over 1928. Geol. Bur. v. h. Nederl. Mij. ngeb. te Heerlen.

KRISHTOFOVICH, A. 1957. *Paleobotánica.* — 4ª ed. (en ruso).

LACEY, W. S. 1953. *Methods in Palaeobotany.* — North Western Naturalist XXIV.

LANG, W. M. 1926. *A cellulose-film transfer method in the study of Fossil Plants.* — Ann. Bot. XC.

LECLERCQ, S. 1928. *La méthode J. Walton pour la Preparation des lames minces.* — An. Soc. Géol. Belgique, Bull. LII.

LECLERCQ, S. y DISCRY, M. 1950. *De l'utilisation du plastique en Paléontologie végétale.* — Ann. Soc. Géol. Belg. LXXII B.

LECLERCQ, S. y NOEL, R. 1953. *Plastic. A suitable embedding substance for Petrographic study of coal and Fossil Plants.* — Phytomorphology III 3.

MITRA, G. B. y SEN, J. 1956. *X—Ray diffraction study of inorganic structural units in fossil wood.* — Am. Journ. Sc. CCLIV.

SEN, J. 1955. *Orientation of quartz grains in some Indian silicified woods.* — The Palaeobot. IV.

— 1956. *Fine structure in degraded ancient and buried wood, and other fossilized plant derivatives.* — Bot. Rev. XXII.

— 1957. *The chemistry of ancient buried wood.* — Geol. Fören. Förhand. LXXIX.

— 1957. *X—Ray diffraction study in inorganic structural units in a Fusinized Fossil Plant (Vertebraria indica).* — Ibid. LXXIX.

STEINBERG, R. M. y BELDING, H. F. 1942. *Dry-peel technique.*—Journ. Paleont. XVI.

THOMAS, H. H. 1925. *The Caytoniales, a new group of Angiospermous plants from the Jurassic rocks of Yorkshire.* — Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B CCXIII.

WALTON, J. 1923. *On "Rhexoxylon", Bancroft- a Triassic genus of plants exhibiting a liane-type of vascular organisation.* — Phil. Trans. Roy. Soc. London B CCXII.

— 1923. *On a new method of investigating Fossil plant impressions or incrustations.* — Ann. Bot. XXXVII.

— 1927. *Recent developments in Palaeobotanical technique.* — *Congr. Strat.* Carb. Heerlen.

— 1928. *A new method of preparing sections of Fossil Plants contained in Coal-Balls or other forms of Petrifaction.* — Nature.

— 1930. *Improvements in the Peel-Method of preparing sections of Fossil plants.* — Nature.

— 1935. *An application of Infra-Red Photography to Palaeobotanical research.* — Nature.

— 1936. *On the factors which influence the external form of Fossil Plants.* — Phil. Trans. Roy. Soc. London B CCXXVI.

— 1951. *Notes on the preparation and permanence of Peel sections.* — Compt. Rend. 3 Congr. Strat. et Géol. Carbon. Heerlen.

WESLEY, A. 1954. *A short synopsis of some Microscopical methods in Palaeobotany.* — Proc. Leeds Phil. Soc. VI 3.

Serie Técnica y Didáctica del Museo de La Plata: Nº 9, 12 de noviembre de 1962